Versión del analizador hematológico

Leuko64™

Ensayo para la detección de inflamación y lesiones en tejidos

Información sobre el producto

REF **LK-064H-100 (100 pruebas)**

IVD ***Para uso diagnóstico in vitro***

RESUMEN Y PRINCIPIO DE APLICACIÓN

La expresión de CD64 en neutrófilos aumenta rápidamente tanto *in vitro* como *in vivo*, en cuestión de horas, en presencia de mediadores del proceso de inflamación, como el interferón gamma y el G-CSF (1-3). El mismo cambio se observa como respuesta a la infección o a las lesiones de tejidos documentadas, lo que indica que la medición de la expresión de CD64 en neutrófilos está relacionada con la presencia de estas condiciones en humanos (4-10). El ensayo Leuko64 emplea una mezcla de tres anticuerpos monoclonales con especificidades hacia los clones 22 y 32.2 de CD64 y Mac2-158 de CD163. El uso de dos anticuerpos de diferentes epítopos de CD64 aumenta la relación señal/ruido del ensayo y proporciona un mecanismo para reducir al máximo la variación entre lotes de la señal de fluorescencia del reactivo. La adición del anticuerpo monoclonal al CD163, un antígeno con especificidad por los monocitos, aumenta la especificidad de la identificación de la subpoblación de leucocitos, lo que simplifica el algoritmo de búsqueda de clusters del software Leuko64 QuantiCALC™, a la vez que permite la identificación de poblaciones de "control positivo y negativo". El empleo de software automatizado elimina la variación inherente al análisis subjetivo de datos de citometría de flujo en formato listmode. El uso de una suspensión de bolas fluorescentes para la estandarización de la cuantificación de CD64 celular permite una trazabilidad conforme al estándar NIST Standard Reference Material SRM 1932 (RM 8640) y proporciona un mecanismo para reducir al máximo las diferencias entre lotes de ensayo Leuko64. Los resultados del ensayo Leuko64 se muestran en forma de Índice PMN CD64 como parámetro diagnóstico, junto con los Índices de monocitos CD64 y CD163.

APLICACIÓN

La versión LK-064H-100 del equipo de ensayo Leuko64 está diseñada específicamente para su uso con un analizador hematológico Abbott Cell-Dyn 4000™ o Cell-Dyn Sapphire™.

USOS PREVISTOS

El equipo de ensayo Leuko64 de Trillium Diagnostics está destinado al uso en la medición de la expresión del leucocito neutrófilo CD64 en conjunto con otras pruebas de laboratorio y evaluaciones clínicas para ayudar al diagnóstico *in vitro* de la respuesta inflamatoria sistémica aguda a lesiones tisulares, como ocurre al producirse daños, infección o sepsis de los tejidos. Trillium Leuko64 está diseñado para uso diagnóstico *in vitro* por parte de personal cualificado y formado.

COMPONENTES DEL EQUIPO

Nombre del reactivo	Cantidad proporcionada	Propósito
Reactivo A	1 ampolla de 5,5 mL	Mezcla de anticuerpos monoclonales murinos *(contiene solución salina tamponada de seroalbúmina bovina purificada 0,5% y azida de sodio 0,01%)*
Reactivo C- II	1 ampolla de 2,2 mL	Bolas de poliestireno para la calibración marcadas con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y StarFire Red en un tampón isotónico con 0,01% de Tween 20 y 0,1% de azida sódica
Etiquetas de código barras	Tubo 1: 110 etiquetas Tubo 2: 110 etiquetas	Juegos de etiquetas de código de barras (tubos 1 y 2) necesarias para conectar con el sistema operativo del analizador hematológico Cell-Dyn
Software Leuko64	1 disco específico para cada lote	Se emplea para analizar los archivos listmode de la citometría de flujo y calcular los índices de CD64 en leucocitos. El CD incluido contiene también tutoriales de formación y uso óptimo del equipo de ensayo Leuko64 para el usuario.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

EQUIPO NECESARIO NO INCLUIDO

- Analizador hematológico Abbott Cell-Dyn Sapphire™ o Cell-Dyn 4000™
- "Tubos sin aditivos VACUETTE®" de 13 × 75 de Greiner Bio-One (artículos: 454088 o 454001 - Z sin aditivo o revestimiento y un tapón perforable). Este sistema de ensayo no se ha comprobado usando tubos con aditivo o revestimiento. No se recomienda hacer esto ya que puede perjudicar el rendimiento del ensayo.
- Cualquier tubo de 13 × 75 vacío con tapón perforable y compatible con los analizadores Abbott Cell-Dyn se puede utilizar en las posiciones de muestra y tubo 1.
- Micropipeta(s) con capacidad de dosificación de 20 µL y 50 µL y puntas desechables
- Agitador vortex
- Ordenador para el análisis de archivos listmode y un "Memory Stick" de transferencia de archivos desde el CellDyn instrumento

MUESTRAS

El ensayo Leuko64 sólo precisa 50 µL de sangre entera anticoagulada con EDTA, por lo que es adecuado para pruebas de pacientes de todas las edades. Las muestras siguen siendo aceptables hasta **8** horas después si se mantienen a temperatura ambiente (18-22 °C) o hasta **48** horas si se almacenan refrigeradas (entre 2 y 8 °C).

INSTRUCCIONES DE USO

Este ensayo SÓLO se puede realizar en el modo de carga automática o el Cell-Dyn 4000 o el Cell-Dyn Sapphire.

Los usuarios de la versión del software de Abbott Sapphire R2.5 (diciembre del 2007) deben consultar en el archivo de PowerPoint Leuko64 CD titulados "Zafiro optimizado la configuración de la versión de software R2.5)" antes de que el análisis de la muestra.

1. Etiquete un tubo de 13 × 75 compatible con los analizadores Cell-Dyn™ con un código de barras de tubo 1 Leuko64-H. Se trata simplemente de un marcador de posición. No se añadirán reactivos o muestras a este tubo.
2. Etiquete un tubo de 13 × 75 sin aditivos ni revestimiento con un tapón perforable con un código de barras de tubo 2 Leuko64-H.**Para obtener más información sobre la colocación correcta de la etiqueta de código de barras, consulte los manuales de usuario de Cell-Dyn 4000™ (apéndice B-11) o Cell-Dyn Sapphire™ (secciones 4-9) de Abbott.* (11,12)
3. Pipetee 50 µL del Reactivo A en la **parte inferior** del tubo 2. Evite que el reactivo se deslice por las paredes internas del tubo ya que eso dificultaría todo el proceso de mezcla.
4. Añada 50 µL de sangre entera y bien mezclada a la parte inferior del tubo 2 con el Reactivo A. Evite que la sangre se deposite en las paredes internas del tubo. Use un hisopo para eliminar los restos de sangre que hayan podido quedar en las paredes internas del tubo.
5. Mezcle el contenido del tubo con cuidado usando un agitador vortex o sujetando el tubo por la parte superior con una mano y dando golpecitos en la parte inferior con un dedo de la otra mano un mínimo de 5 veces.
6. La mezcla perfecta de la suspensión de bolas de Reactivo C-II es muy importante y se realiza mejor agitando la ampolla durante 10 segundos antes de pipetear. Pipetee 20 µL de Reactivo C-II **bien mezclado** en el contenido del tubo 2 y trate de evitar que salpique a las paredes del tubo.
7. Mezcle el contenido del tubo con cuidado como se indica en el **paso 5.** Inicie una incubación previa de 10 minutos.
8. Durante los 10 minutos de la incubación, programe la lista de tareas con la opción de *rack and position* (rejilla y posición) de identificación y seleccione el ensayo CD3 / 4 / 8.
9. Rellene una rejilla de carga automática en el siguiente orden:

   Posición 1: un tubo de recogida de sangre **vacío** con un tapón perforable. ***Asegúrese de que el tubo no tiene ningún código de barras.***

   Posición 2: Tubo 1 desde el **paso 1**

   Posición 3: Tubo 2 desde el **paso 2**
10. Seleccione *Run Autoloader* (Iniciar cargador automático). ***NOTA:*** Puesto que este ensayo se sirve del ensayo existente CELL-DYN Immuno T-Cell (CD3/4/8) de Abbott, se deben ignorar los indicadores y los mensajes generados por el sistema que hacen referencia a la muestra o los datos (es decir, muestra insuficiente, infracción de la tasa de recuento de leucocitos, número de eventos del recuento de leucocitos fuera de los límites). Al analizar una serie de muestras, los errores repetidos por muestras insuficientes provocarán que el cargador automático se detenga, lo que requerirá la intervención del operador. Haga clic en "OK" y "Run Autoloader". Los mensajes generados por el sistema relacionados con el instrumento o los reactivos (es decir, error al colocar la jeringa, fallo del cargador automático o del cabezal de mezcla, reactivo insuficiente) se deben tratar en consecuencia.

ANÁLISIS DEL ARCHIVO LISTMODE

Inicie el software Leuko64™ QuantiCALC incluido en un equipo PC que se utilizará para el análisis de datos. Copie los archivos listmode de las muestras para trasladarlos a este equipo de análisis. Para el análisis de los datos listmode, siga las sencillas instrucciones que encontrará en el archivo de Ayuda del software. Revise el tutorial en el CD de software en relación con el análisis antes de su uso. ***NOTA: El software es específico para cada lote y los protocolos de uso son específicos para cada modelo de instrumento. Se le pedirá que verifique la selección correcta.***

MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

Deben extremarse las precauciones al manejar este producto. Deben adoptarse medidas de precaución universales durante la utilización tanto de este producto como de las muestras de pacientes destinadas al ensayo. Evite la inhalación, la ingestión y el contacto del producto con los ojos o con la piel. Utilice equipo personal de protección adecuado y siga las prácticas recomendadas de laboratorio.

Guarde las ampollas en posición vertical, bien cerradas, a una temperatura entre 2 y 8 °C cuando no se vayan a usar. Las ampollas que no se hayan abierto permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que se indica en cada ampolla y en cada hoja de ensayo. Evite ciclos innecesarios de calentamiento y enfriamiento. Proteja el producto de la congelación, de temperaturas superiores a 30 ° C y de periodos de tiempo prolongados a temperatura ambiente (entre 18 y 26 °C) o de la exposición a la luz.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

ATENCIÓN

Todos los componentes de este equipo contienen azida de sodio (<0,1% en peso/volumen) como conservante. Este producto químico es un compuesto tóxico y peligroso si se combina con ácidos o metales. Manipule el equipo con el cuidado necesario. Las soluciones que contienen azida de sodio se deben desechar correctamente.

CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO

El rendimiento y la especificidad de los reactivos que se incluyen en este equipo se han sometido a prueba empleando los métodos de control de calidad interna de Trillium. Este producto se fabrica de acuerdo con directrices de control de calidad y de producción que cumplen las normas FDA QSR e ISO 13485:2003.

LIMITACIONES DEL PRODUCTO

- Se sabe que el uso terapéutico de interferón gamma, G-CSF o agentes que modulen sus niveles, afecta la sobrerregulación de la expresión del leucocito CD64 y, por lo tanto, influirá sobre la interpretación del ensayo. Los resultados del ensayo Leuko64 no deben usarse como medida única de inflamación en estos pacientes, sino más bien para realizar un seguimiento del efecto de los tratamientos mencionados.
- Para obtener un rendimiento óptimo y evitar resultados espurios o inexactos, es necesario almacenar y usar este producto y las muestras que se van a ensayar de forma adecuada.
- Una mezcla incompleta del Reactivo C antes de su uso puede invalidar tanto la alícuota que se extrae como el resto del material de la ampolla. La selección del protocolo incorrecto del instrumento o del número de lote al iniciar el software puede disminuir la precisión del análisis de los datos listmode. El software es específico para cada lote y los protocolos de uso son específicos para cada modelo de instrumento. Realice la selección correcta cuando se le solicite.
- Cualquier archivo de una muestra de sangre con leucopenia o neutropenia muy elevada que muestre menos de 200 eventos del recuento de leucocitos reunidos por el software Leuko64 en cualquiera de las 3 categorías (PMN, Linfocitos o Monocitos) no puede ser objeto de análisis por el ensayo Leuko64 sin que se produzca una reducción significativa en la precisión y exactitud del índice de PMN CD64.
- Cualquier archivo con un recuento de evento de bolas inferior a 1000 debe evaluarse para determinar el motivo del bajo número de bolas, que podría deberse tanto a ajustes incorrectos del instrumento como a una muestra de sangre sin diluir con un WBC >25 x 109 células/L.
- Este producto es sólo para uso con el de AbbottCell-Dyn 4000™ o Cell-Dyn Sapphire™ analizadores de hematología.
- La colocación correcta de la etiqueta de código de barras es esencial. Consulte el manual de usuario de Abbott Cell-Dyn™ para obtener más información.
- Este sistema de ensayo no se ha comprobado usando tubos con aditivo o revestimiento. No se recomienda hacer esto ya que puede perjudicar el rendimiento del ensayo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Cada laboratorio debería establecer un(os) intervalo(s) de referencia aceptables para cada lote de Leuko64-H™. El intervalo de referencia previsto del Índice de PMN CD64 para muestras de sangre normal sanas es ≤1,00. En general, cuanto más grave sea la respuesta inflamatoria sistémica aguda, mayor será el valor del Índice CD64 medido para PMN (y Monocitos). No se han establecido intervalos previstos de referencia para los Índices de monocitos CD64 y CD163.

REFERENCIAS

1 Davis BH. (2005) Improved Diagnostic Approaches to Infection/Sepsis Detection. Expert Rev Mol Diag, 5, 193-207.

2 Schiff, D., Rae, J., Martin, T., Davis, B., Curnutte, J. (1997) Increased phagocyte CD64 expression and improved Fc-receptor mediated phagocytosis following *in vivo* recombinant human interferon-γ treatment of normal human subjects. Blood 90, 2987-94.

3 Petroni KC, Shen L, Guyre PM (1988) Modulation of human polymorphonuclear leukocyte IgG Fc receptors and Fc receptor-mediated functions by IFN-gamma and glucocorticoids. J. Immunol 140, 3467-72.

4 Davis BH, Bigelow NC, Curnutte JT, Ornvold K (1995) Neutrophil CD64 expression: Potential diagnostic indicator of acute inflammation and therapeutic monitor of interferon- γ therapy. Lab Hematol 1, 3-12.

5 Guyre PM, Campbell AS, Kniffin WD, Fanger MW (1990) Monocytes and polymorphonuclear neutrophils of patients with streptococcal pharyngitis express increased numbers of type I IgG Fc receptors. J Clin Invest 86, 1892-1.

6 Ng PC and Lam HS. (2006) Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 18(2):125-131.

7 Davis BH and Bigelow NC (2005) Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis. *Lab Hematol* 11:137- 47.

8 Leino L, Sorvajarvi K, Katajisto J, Laine M, Lilius E, Pelliniemi T, Rajamaki A, Silvoniemi P, Nikoskelainen J (1997) Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo. Clin Exp Immunol 107, 37-43.

9 Davis BH, Olsen S, Ahmad E, Bigelow NC (2006) Neutrophil CD64 is an Improved Indicator of Infection or Sepsis in Emergency Room Patients. Arch Pathol Lab Med. 130(5):654-61.

10 Van der Meer W, Pickkers P, Scott CS, van der Hoeven JG, Bunnewiek JK. (2007) Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. J Endotoxin Res 13:94-100.

11 Groselj M, Ihan A, Derganc M. (2008) Neutrophil and Monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensity and calculated Indexes. Mediators of Inflammation 2008, article ID 202646

12 Bhandari V, Wang C, Rinder C, Rinder H: (2008) Hematologic profile of sepsis in neonates: Neutrophil CD64 as a diagnostic marker. Pediatrics 121:129-134.

13 Cell-Dyn 4000™ System Operator's Manual, Appendix B-11 to B-13, Abbott Diagnostics Division, 9140275G- October 2001.

14 Cell-Dyn Sapphire™ System Operator's Manual, Section 4-9, Abbott Diagnostics Division, 9140419C- December 2005.

15 US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Parts 1910. 1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register 235:64175-82. 1991.

16 US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication (NIH) 93-8395.Washington: US Government Printing Office. 1993.

TRILLIUM DIAGNOSTICS

MARCAS REGISTRADAS

Los derechos del software Leuko64™ QuantiCALC están registrados, y ha sido desarrollado de modo conjunto por:
VERITY SOFTWARE HOUSE • Topsham, Maine, Estados Unidos • www.vsh.com *y*
TRILLIUM DIAGNOSTICS, LLC • Brewer, Maine, EE.UU. • www.trilliumdx.com

Cell-Dyn 4000™ es una marca comercial de Abbott Laboratories • Abbott Park, Illinois, Estados Unidos • www.abbottdiagnostics.com

Cell-Dyn Sapphire™ es una marca comercial de Abbott Laboratories • Abbott Park, Illinois, Estados Unidos • www.abbottdiagnostics.com

Vacuette® es una marca comercial registrada de Greiner Bio-One • Kremsmuenster, Austria • www.vacuette.gbo.com

ATENCIÓN AL CLIENTE

Trillium Diagnostics, LLC
PO Box 67
Brewer, Maine, USA 04412
Tel 1-207-945-0900
Fax 1-207-942-0346
Technical info@trilliumdx.com
Orders accepted by Phone, Fax, or Website
www.trilliumdx.com

EC REP **IQ Products, bv**
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen, The Netherlands
Tel +31 (0) 50 57 57 000
Fax +31 (0) 50 57 57 002
Technical marketing@iqproducts.nl
Orders orders@iqproducts.nl
www.iqproducts.nl